第 38 卷 第 2 期　　昆 虫 学 报　　Vol. 38, No. 2
1995 年 5 月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　May, 1995

吡虫啉、杀虫双对美洲蜚蠊中枢神经的电生理影响*

刘 贤 进
（江苏省农业科学院植物保护研究所　南京　210014）
王 荫 长
（南京农业大学植物保护系　南京　210095）
赵 勇　刘安西
（南开大学生物系　天津　300071）

摘要　本文运用美洲蜚蠊（*Periplaneta americana*）第 VI 腹神经节突触后电位细胞外记录方法研究了吡虫啉、杀虫双对中枢神经活动的影响。结果显示：1.73×10^{-7}mol/L 吡虫啉和 1.38×10^{-5}mol/L 杀虫双处理后初期均能引起自发性突触后电位发放增强，随后导致突触传递阻断。而吡虫啉较杀虫双阻断传递快，且用 Ringer 生理溶液冲洗不易恢复，表明吡虫啉较杀虫双激动剂活性更强。以 3.37×10^{-5}mol/L 甲胺磷预处理中枢神经样品后，再进行杀虫双处理，则突触后电位的发放频率和幅值有明显增强，产生连续超幅排放（overshooting）现象，相反，甲胺磷预处理对随后进行吡虫啉处理无明显影响。这些结果说明，吡虫啉、杀虫双和乙酰胆碱受体发生相互作用过程存在差异。

关键词　吡虫啉，杀虫双，美洲蜚蠊

吡虫啉（Imidacloprid）是日本和德国 1989 年联合开发成功的硝基胍杂环类高效杀虫剂。据 Bai 等[1]报道这是一种高效的烟碱型乙酰胆碱受体效应物，能与 α-银环蛇毒素竞争乙酰胆碱受体。杀虫双是我国 70 年代筛选应用的沙蚕毒素类杀虫剂，其毒理机制目前尚无正式报道，据推测与沙蚕毒素相似，作用于神经突触后膜的乙酰胆碱受体。虽然这两种药物同属竞争性乙酰胆碱受体占领剂，但在引起昆虫中毒的早期症状却有明显差异，吡虫啉能引起昆虫兴奋，而杀虫双则不能[2]，说明这两种化合物在神经毒理上存在某种差异。本文就这两种化合物对美洲蜚蠊的中枢神经电活动的影响作了比较研究，现将结果总结如下。

1　试验材料与方法

1.1　试验试剂

* 本项工作获国家自然科学基金资助。
本文于 1994 年 1 月收到。

90%吡虫啉原药由江苏省农药研究所合成；98%杀虫双原药由贵州省化工研究所合成；95%甲胺磷原药：由浙江省菱湖化学厂合成。以上三种药物均以分析纯丙酮配制成母液，试验时再用 Ringer 生理溶液配成所需浓度的药液供试验处理，现配现用。α-银环蛇毒：由 Sigma 公司进口，试验时用生理溶液配制成 2×10^{-6}mol/L 的溶液供试验处理用。

1.2 试验材料

试验所用试虫为室内多代饲养的美洲蜚蠊（*Periplaneta americana*）雄成虫。于室温下(28±2℃)解剖，除去内脏、脂肪体，小心剥离包括完整尾须的整条腹神经索，并小心剥去第 V 和第 VI 神经节间的神经鞘，剪断连接尾须的两条抑制性神经轴突，即可供神经电生理试验用。

蜚蠊第 VI 腹神经节突触后电位细胞外记录试验采取 Callec 等[3]的糖间隙记录方法。甘露醇浓度为 87 g/L，灌流流速为 2 ml/min，电信号经微电极放大器和前置直流放大器二级放大以记忆示波器记录，照相。记录突触后电位的发放频率、幅值及阻断时间，刺激电压为 0.20—0.40V，时程为 0.2—0.4ms。计算三个样品的平均值。试验在屏蔽箱内进行。

蜚蠊生理溶液采用 Ringer 生理溶液，配方如下：NaCl 208.6 mmol/L，KCl 3.1 mmol/L，$CaCl_2$ 5.4mmol/L，$NaHCO_3$ 2.0mmol/L，pH 7.0。

2 试验结果

2.1 对蜚蠊自发性突触后电位的影响

蜚蠊腹神经索在神经小室内稳定 30 min 后，第 VI 神经节后自发性突触后电位消失。用灌流方法将稀释的 1.73×10^{-9}mol/L，1.73×10^{-8}mol/L，1.73×10^{-7}mol/L，1.73×10^{-6}mol/L 吡虫啉和 1.38×10^{-6}mol/L，1.38×10^{-5}mol/L，1.38×10^{-4}mol/L 杀虫双分别从低浓度到高浓度依次处理第 VI 腹神经节。结果显示，当吡虫啉浓度高于 10^{-7} mol/L，杀虫双浓度高于 10^{-5} mol/L 时，均能明显诱发产生兴奋性突触后电位(EPSP)。1.73×10^{-7}mol/L 吡虫啉诱发的突触后电位平均频率为 0.7—1.1 次/ms，幅值为 0.7—0.8mV（图版 I:1-a）。1.38×10^{-5}mol/L 杀虫双诱发的突触后电位平均频率为 0.4—0.7 次/ms，幅值为 0.3—0.6mV（图版 I:1-b）。吡虫啉为持续性连续发放，持续时间为 3—4min，后转入失敏状态。杀虫双为间隙性连续发放，发放峰值数从多个连续发放降到单个发放，持续时间 20—50min，全程平均发放频率为 0.1—0.3 次/ms，呈频率、幅值逐渐降低趋势。单用 0.5%丙酮的生理溶液处理样本，在处理 1—2 min 后对 EPSP 无可见影响。

2.2 对中枢神经兴奋性突触后电位的阻遏作用

在以两种药剂灌流处理的腹神经索的尾须兴奋性轴突每隔 2—5min 施以电压 0.2—0.4V，时程 0.2—0.4ms 的方波刺激，可以看到以 1.73×10^{-7}mol/L 吡虫啉处理后 2—5 min，突触后电位保持正常或略有增幅，去极化时间延长；5min 后突触传递出现部分抑制；处理后 10—15min 电位逐渐被阻断(图版 I:2b-2)。而以 1.38×10^{-5}mol/L 杀虫双处理 10—15min 后才表现神经突触后电位部分下降，到 35—45 min 逐渐阻断（图版

I:2c-2)。在各处理阻断 10min 后，以生理溶液冲洗第 VI 腹神经节，吡虫啉处理样品在冲洗 50—60min，突触后电位略有恢复，幅值约为处理前的 25%—40%（图版 I:2b-3)。而杀虫双处理在冲洗后 8—10min，即出现突触后电位明显恢复。随着冲洗时间延长，幅值可恢复到接近处理前水平（图版 I:2c-3)。这两种药剂对神经突触传递的阻遏作用和 α-银环蛇毒素相近(图版 I:2a-1,2,3)。但 α-银环蛇毒素引起的阻断，即使冲洗 60min 以上亦不能恢复。表明前两者为可逆性阻遏，而后者为不可逆性阻断。

2.3 对甲胺磷预处理神经的自发性突触后电位的影响

甲胺磷是一种乙酰胆碱酯酶抑制剂，以 3.37×10^{-5}mol/L 甲胺磷灌流处理第 VI 腹神经节，能引起阵发性突触后电位释放(图版 I:3-a)。这是由于乙酰胆碱酯酶被抑制后，造成乙酰胆碱在突触间隙累积而引发的。这种发放可持续 40—60min。在甲胺磷预处理 5min 后，再换入 1.73×10^{-6}mol/L 吡虫啉，则 2min 后，突触后电位发放转变为持续性连续发放(图版 I:3b-1)，其频率、幅值和持续时间均和单用吡虫啉处理相近，不受甲胺磷预处理影响，处理后 15min EPSP 电位迅速被抑制(图版 I:3b-2)。神经处于失敏状态，用生理液冲洗亦不能恢复（图版 I:3b-3)，和未经甲胺磷预处理相同。而在甲胺磷预处理 5min 后，再换入 1.38×10^{-5}mol/L 杀虫双处理，则 2min 后即出现突触后电位连续性超幅排放 (overshooting)，幅值在 1.4—2.2 mV，而且频率也由用杀虫双单一处理时约 0.4—0.7 次/ms 增加到 0.8--1.4 次/ms（图版 I:3c-1)。后逐渐降低，转为阵发性连续发放(图版 I:3c-2)。这说明杀虫双处理和甲胺磷预处理之间在诱发突触后电位发放过程中协同增强作用。

3 讨论

3.1 吡虫啉和杀虫双对蜚蠊中枢神经的激动作用

从本试验结果可以看到：吡虫啉和杀虫双对蜚蠊腹神经索第 VI 神经节突触后电位均有诱发作用，说明这两种化合物均具有竞争性激动剂的特征。但吡虫啉在处理初期引起的突触后电位远较杀虫双剧烈，因而对中枢神经的兴奋作用也更显著。这可能是两种药物在造成中毒初期症状上差异的毒理基础，两种药剂最终均导致神经突触传递被阻遏，因而宏观表现为虫体麻痹，进而死亡的机制是一致的。

3.2 两种药物与乙酰胆碱受体的相互作用

吡虫啉和杀虫双均是通过与乙酰胆碱受体竞争性结合，从而破坏昆虫中枢神经传导[4,6]，因此它们和乙酰胆碱竞争乙酰胆碱受体的能力是影响其毒理效应的关键。从本文试验结果分析，在甲胺磷引起突触间隙乙酰胆碱累积，浓度提高的前提下，吡虫啉和乙酰胆碱的结合并不受明显影响，说明吡虫啉是一种乙酰胆碱受体强有力的竞争性激动剂，其对乙酰胆碱受体竞争力超过 α-银环蛇毒素，也说明这一点[1]。相反，杀虫双则受突触间乙酰胆碱浓度的影响。当甲胺磷导致突触间隙乙酰胆碱浓度提高时，杀虫双不能完全阻断乙酰胆碱和其受体的结合，从而形成了甲胺磷诱发的阵发性发放和杀虫双诱发的间隙连续发放协同发放，导致在突触后电位超幅排放现象。在杀虫双单独处理时，由于存在某种反馈抑制突触前膜释放乙酰胆碱的机制，不造成突触间隙乙酰胆碱大量累积，因而这种现象不能表现出来，这种反馈抑制机制已在杀虫环等其他杀虫剂研究中得到证实[7,8]。

虽然目前已明确这两种杀虫剂的先导化合物烟碱和沙蚕毒素对乙酰胆碱受体的作用是与受体分子的 α-亚基结合，从而阻碍了接纳乙酰胆碱的功能[6]。但各类化合物如何与α-亚基之间相互作用的过程还不清楚。另外，烟碱只对烟碱样受体和毒蕈酮样受体有效应，而对毒蕈碱样受体无作用。但沙蚕毒素对烟碱样和毒蕈碱样受体均有作用。这些差异也是造成吡虫啉、杀虫双在和甲胺磷联合应用中对蜚蠊中枢神经不同毒理影响的基础。

致谢 本项工作得到尤子平教授、杜正文研究员的指导，在此表示感谢。

参 考 文 献

1 Bai, D. *et al.* Activities of Imidacloprid and a related nitromethylene on cholinergic receptors of an identified insect motor neurone. Pestic. Sci. 1991, **33**:197—204.
2 Schroeder, M. E., R. F. Flattum. The mode of action and neurotoxic properties of the nitromethylene heterocycle insecticides. Pestic. Biochem. Physiol. 1984, **22**:148—160.
3 Callec, J. J., D. B. Sattelle. A simple technique for monitoring the synaptic actions of pharmacological agents, J. Exp. Biol. 1973, **59**:725—738.
4 刘安西，等. 杀虫环对黑胸大蠊神经突触传递的阻遏作用. 昆虫学报，1985,**28**(4): 375—381.
5 施玉梁. 沙蚕毒素和杀螟丹的杀虫机理. 生物化学与生物物理进展，1980,**3**: 31—37.
6 Eto, M. Biochemical mechanism of insecticides activities. in: Chemistry of Plant Protection. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 1991, **6**:73—76.
7 刘安西，等. 杀虫环对杀虫突触前膜钙通道的调制. 生物物理学报，1988,**31**(4): 350—354.
8 Lapied, B., *et al.* Dual effects of dichlrvos on the synaptic transmission in the sixth abdominal ganglion of the cockroach *Periplaneta americana*, Pestic. Sci. 1989, **27**:97—102.

NEUROPHYSIOLOGICAL EFFECTS OF IMIDACLOPRID AND DIMEHYPO ON THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM IN THE AMERICAN COCKROACH, *PERIPLANETA ARMERICANA*

Liu Xianjin

(Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences Nanjing 210014)

Wang Yingchang

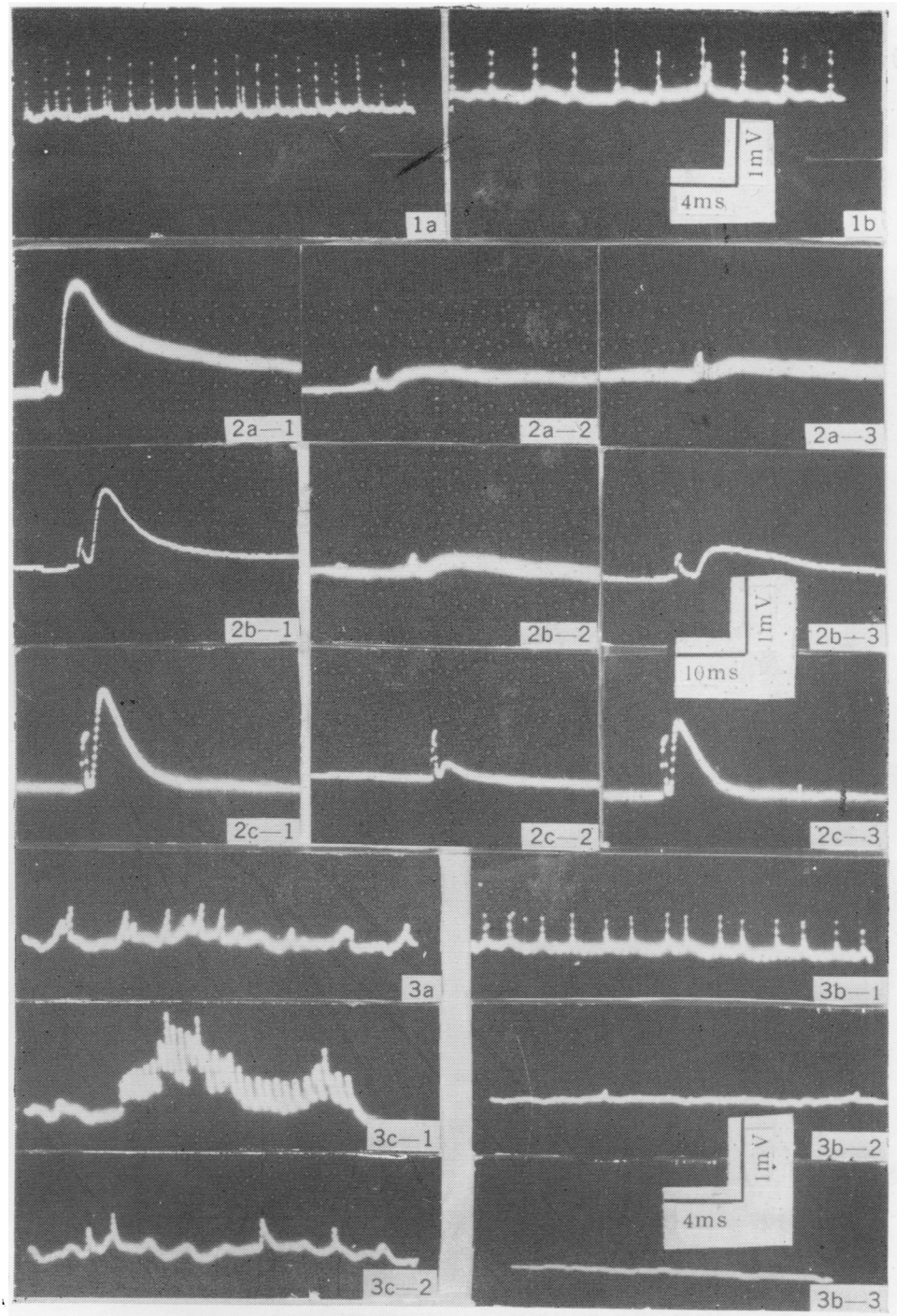
(Department of Plant Protection, Nanjing Agricultural University Nanjing 210095)

Zhao Yong　　Liu Anxi

(Department of Biology, Nankai University Tianjing 300071)

Abstract　Effects of the insecticides Imidacloprid and Dimehypo on the postsynaptic potential at the cercal-giant fiber synapses located with in the sixth adbominal ganglion of the American cockroach *Periplaneta amerieana* were studied by using extracellular electrophysiological recording method. An initial increase in the frequency of spontaneous postsynaptic potentials and final complete block to the impulse propagation were observed after the application of Imidacloprid (1.73×10^{-7} mol/l) or Dimehypo (1.38×10^{-5} mol/L). Blocking action caused by Imidacloprid was quicker than by Dimehypo, and recovery is more difficult in the normal Ringer solution. It is supposed that the agonistic activity of Imidacloprid is stronger than that of Dimehypo. When a pre-application of Methamidophos (3.37×10^{-5}mol/L) was conducted, treatment with Dimehypo produced greatly increased spontaneous postsynaptic firings and high frequency bursts of overshooting. By contrast, no visible changes were brought to the Imidacloprid treatment by Methamidophos pre-application. This study shows that there is some pharmacological difference between Imidacloprid and Dimehypo during their interactions with the postsynaptic acetylcholine receptors.

Key words: Imidacloprid, Dimehypo, American cockroach



1　药剂对美洲蜚蠊第 VI 腹神经节自发性突触后电位的影响

1-a 为 1.73×10^{-7}mol/L 吡虫啉处理后 3min 记录的 mEPSP 发放；1-b 为 1.38×10^{-5}mol/L 杀虫双处理后 3min 记录到的 mEPSP 发放。

2　药剂对蜚蠊中枢神经突触传递的影响

2a-1 为处理前 EPSP 电位；2a-2 为 2.0×10^{-6}mol/L α-银环蛇毒素处理后 14min，电位被抑制；2a-3 为用 Ringer 生理溶液冲洗 60min 后，EPSP 电位不能恢复。2b-1 为处理前；2b-2 为 1.72×10^{-7}mol/L 吡虫啉处理后 10min EPSP 电位接近被遏制；2b-3 为用 Ringer 生理溶液冲洗 55 min 后，EPSP 电位略有恢复。2c-1 为处理前；2c-2 为 1.38×10^{-5}mol/L 杀虫双处理后 35min EPSP 电位逐渐被阻断；2c-3 为用 Ringer 生理溶液冲洗 15min 后，EPSP 电位明显恢复。

3　药剂对甲胺磷预处理后 3min 突触后电位阵发性自发释放

3b-1 为甲胺磷预处理后 5min 再以 1.73×10^{-7}mol/L 吡虫啉处理后 3min 突触后电位连续自发释放；3b-2 为处理后 5min 自发释放不能恢复；3c-1 为甲胺磷预处理后，再以 1.38×10^{-5} mol/L 杀虫双处理 5min 后，出现超排放现象；3c-2 为处理后 20min，自发释放减少情形。